# DETECCION DE PESTICIDAS ORGANO - FOSFORADOS EN CADENAS ALIMENTARIAS QUE CULMINAN EN EL HOMBRE

GRÜMBERG, J. (*); L. CAPURRO (*); J. IPINZA (*)

SUMMARY

Blood samples of three groups of bovids belonging to dairy settlements fed on pastures close to zones sprayed with organo-phosphorus pesticides, were analized. The purpose was to detect possible transference of these pesticides to the mentioned animals by measuring the inhibition that they produce in the plasma cholinesterase activity. This activity was measured using Michel's Electrometric Method.

The results were compared with those obtained through the blood analysis of a group of bovins fed on pasture land not recently fumigated.

As a result, the three experimental groups show a lower plasmatic cholinesterase activity than the control.

In the mean time seven groups of white rats were submitted to known doses of Gusathion in drinking water with increasing concentrations of 5, 10, 15, 20, 40, 80 and 160 parts per million respectively. Blood samples of them were analysed in order to find out some pattern for correlating the amount of pesticide intaked with, the inhibition of the enzimatic activity.

The statistical analysis of the results show that a decreasing in the plasma cholinesterase activity begings with 15 parts per million concentration.

The inhibition degree of the enzimatic activity does not show any visible equivalent variation during the insecticide increasing.

## I. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

El aumento acelerado de la población humana ha traído como consecuencia, entre otras cosas, una mayor demanda de alimentos, lo cual ha obligado al hombre a desarrollar una agricultura y una ganadería intensivas.

Si bien es cierto esto se ha logrado gracias a un uso creciente de una vasta gama de pesticidas químicos, substancias usadas para combatir las plagas que causan daño a la agricultura o a la salud humana o animal en general, no cabe duda que dichos productos han llegado a convertirse en un

(*) Departamento de Ciencias Pecuarias Básicas, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile.

factor de contaminación. De hecho, residuos de ellos han sido encontrados en el aire, agua, suelo, plantas, animales e incluso en el hombre (Carson 1962.)

Un grupo importante de estas substancias son los insecticidas y dentro de estos los órganos–fosforados cuyas propiedades tóxicas se deben a la capacidad que tienen de inhibir la colinesterasa, enzima que cataliza la hidrólisis de la acetilcolina, neurotransmisor químico parasimpático, produciéndose, por lo tanto, acumulación de esta última, lo que se traduce en trastornos en la transmisión nerviosa, falla respiratoria y muerte por asfixia (Rodríguez 1963).

Estos compuestos son degradables en forma relativamente fácil, ya sea en el organismo animal o en el ambiente por lo que prácticamente no se acumulan ni dejan residuos.

Lehman (en West 1970) ha encontrado que concentraciones de 5 partes por millón de Gusathión en el alimento de ratas durante un período de dos años no causan efecto clínico alguno. Sin embargo, por otra parte Townsend y Specht (1975) han encontrado residuos de órganos–fosforados en el suelo 3 meses después de su aplicación y Wolfe *et al.* (1973) hallaron que el Parathión persistía en el suelo hasta 5 años después de ser aplicado.

A pesar de que no existen pruebas que las pequeñas cantidades de estas substancias halladas en los tejidos humanos o en la dieta dentro de los niveles de tolerancia establecidos por la ley hayan sido capaces de producir algún efecto desfavorable en la salud humana (Whitten 1969) debemos tener presente que un cambio en un punto, en una molécula incluso del organismo, puede traer consecuencias insospechadas, imposibles de predecir, provocando cambios en órganos o tejidos que aparentemente no tengan ninguna relación, si bien no a corto plazo, por lo menos con el transcurso de los años.

En Chile, el número de trabajos realizados para cuantificar la transferencia de pesticidas animales domésticos como los bovinos, a través de los distintos eslabones de la cadena alimentaria de la cual forman parte y que tiene como eslabón final al hombre, es bastante escaso.

Ante estos hechos decidimos realizar un análisis preliminar experimental, que nos permitiera establecer el grado de contaminación por insecticidas órgano–fosforados que experimenta el ganado bovino que se encuentra mantenido en áreas vecinas a zonas sometidas a aplicaciones aéreas con estos biocidas.

Paralelamente y con el objeto de obtener alguna pauta que estableciera una relación entre los resultados obtenidos y la cantidad de pesticida ingerido, decidimos determinar la presencia de órgano–fosforados en ratas blancas de laboratorio, las cuales fueron sometidas a dosis conocidas de insecticida.

## II. MATERIAL Y METODO

Se tomaron muestras de sangre en cuatro grupos de bovinos pertenecientes a planteles lecheros de los alrededores de Santiago:

*Grupo 1:* 11 muestras de animales pertenecientes al fundo "María Elena" sin antecedentes de aplicaciones recientes por lo cual fue considerado como grupo control en relación a los demás.

*Grupo 2:* 10 muestras de animales del fundo "Los Maitenes" ubicado en Padre Hurtado en donde se habían realizado tratamientos aéreos, en cultivos de papas colindantes, con Gusathión, 7 días antes de tomar las muestras.

*Grupo 3:* 12 muestras de sangre de animales del fundo "Los Sauces" de Padre Hurtado lugar donde se había tratado un maizal con Gesapín, 6 días antes de la toma de la muestra, mediante una motobomba. Ocho días antes de la toma de la muestra, estos animales estuvieron confinados en potreros cuyos terrenos vecinos habían sido sometidos a aplicaciones de Ekatín hacía sólo dos días.

*Grupo 4:* 13 muestras de sangre de animales de la Parcela Nº 6 de Pudahuel, en donde un alcachofal colindante estuvo sometido a aplicaciones aéreas con Gusathión 20 días antes de la toma de la muestra.

Se analizaron además muestras de sangre de ratas sometidas a dosis conocidas del insectida órgano–fosforado Gusathión disuelto en el agua de bebida la cual se administró *ad libitum* durante 4, 5 días. Para esto se trabajó con 7 grupos de ratas cada uno formado por 5 animales. La concentración de insecticida en el agua que se le suministró a cada grupo, fue respectivamente de 5, 10, 15, 20, 40, 80 y 160 partes por millón. Un grupo de 10 animales, los que no fueron tratados con insecticida, se mantuvo como control

A cada rata se le tomaron muestras de sangre 60 hs. antes de aplicar el insecticida al agua (medición inicial). Luego se hicieron mediciones en muestras de sangre tomadas a las 12, 36, 60, 84 y 108 hs. de administrado éste.

Ninguno de los animales analizados, bovinos o ratas, mostró síntomas clínicos de intoxicación (Sandifer *et al.* 1972).

Entre los varios métodos empleados para determinar la presencia de órgano–fosforados, nos decidimos por aquellos indirectos que se basan en medir la actividad de la colinesterasa sanguínea (Witer 1963). Entre estos escogimos por ser el más asequible a nuestras posibilidades, el Electrométrico de Michel (Michel 1949) el cual está basado en la determinación del ácido acético liberado por la acción de la colinesterasa sobre la acetilcolina. La producción de ácido es medida en términos de diferencia de pH (D. pH/hora) producida por la actividad enzimática sobre una solución buffer standard. Mediante este método medimos la actividad de la colinesteresa plasmática.

## III. RESULTADOS

Para establecer si las diferencias encontradas entre los valores D. pH/hora en los cuatro grupos de bovinos tienen algún valor significativo, utilizamos la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallks (Siegel 1956). Comparados los resultados obtenidos con la Tabla C de Siegel, obtuvimos un $p < 0.001$.

Con el objeto de visualizar las variaciones entre cada grupo, sabiendo ya que son significativas, obtuvimos el valor promedio de D. pH/hora en cada grupo, los que se encuentran expresados en la Tabla Nº 1.

TABLA Nº 1

**Valor promedio de D. pH/hora en los 4 grupos de bovinos analizados**

| Grupo | D. pH/hora |
|---|---|
| 1 (Control) | 0,28 |
| 2 | 0,19 |
| 3 | 0,16 |
| 4 | 0,17 |

En relación a las ratas tratadas y con el objeto de determinar la variabilidad normal del valor D. pH/hora, tomamos para el cálculo el valor de la medición inicial en los 45 individuos utilizados, estableciendo su media ($\bar{x}$), desviación típica (S) y coeficiente de variación (C. V.).

Los resultados fueron los siguientes:

$$\bar{x} = 0{,}57$$
$$S = 0{,}16$$
$$C.\,V. = 28\,\%$$

O sea, se podría esperar que los valores de D. pH/hora fluctúen normalmente en el 95 % de los casos para los distintos individuos entre 0,27 y 0,87 ($\bar{x} \pm 2S$).

Sobre la base de la amplitud del valor D. pH/hora en las 6 mediciones de cada rata del grupo testigo, analizamos la variabilidad existente en un mismo individuo, lo que nos dio el resultado siguiente:

$$\bar{x} = 0{,}10$$
$$S = 0{,}03$$
$$C.\,V. = 30\,\%$$

De acuerdo con estos datos, encontrado en un individuo un valor determinado de D. pH/hora, éste, en el 95 % de los casos, no podría variar normalmente sobre ese valor más 0,16 ni bajo ese valor menos 0,16, ya que la amplitud no debería ser mayor de 0,16 ($\bar{x} \pm 2S$).

La amplitud no excedió de 0,10 en ninguno de los animales de los grupos 1 y 2. En los restantes grupos en todos los animales está sobre 0,16.

Se calculó el valor promedio D. pH/hora para las mediciones realizadas en los diferentes tiempos de tratamiento en cada uno de los grupos; los resultados están expresados en la Tabla Nº 2.

TABLA Nº 2

**Valores promedios de D. pH/hora en los diferentes tiempos de tratamiento**

| Grupos | Inicial | 12 hs. | 36 hs. | 60 hs. | 84 hs. | 108 hs. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 0,59 | 0,55 | 0,61 | 0,59 | 0,57 | 0,57 |
| 1 | 0,48 | 0,46 | 0,47 | 0,44 | 0,44 | 0,45 |
| 2 | 0,49 | 0,45 | 0,46 | 0,44 | 0,45 | 0,47 |
| 3 | 0,69 | 0,50 | 0,49 | 0,43 | 0,47 | 0,43 |
| 4 | 0,57 | 0,38 | 0,33 | 0,34 | 0,34 | 0,35 |
| 5 | 0,55 | 0,34 | 0,30 | 0,30 | 0,29 | 0,31 |
| 6 | 0,64 | 0,47 | 0,37 | 0,13 | 0,10 | 0,14 |
| 7 | 0,62 | 0,50 | 0,32 | 0,09 | 0,00 | 0,00 |

Realizando el análisis estadístico de esta Tabla, encontramos que:

Tomando como referencia los promedios iniciales de cada grupo, analizamos la variabilidad del valor D. pH/hora entre grupos obteniendo los siguientes resultados:

$$\bar{x} = 0{,}58$$

$$S\,\bar{x}\ \text{(error típico)} = 0{,}07$$
$$\text{C. V.} = 12\,\%$$

De esto se desprende que los valores promedios de D. pH/hora, para grupos distintos, deberían fluctuar en el 95 % de los casos entre 0,44 y 0,72 ($\bar{x} \pm 2\,S\,\bar{x}$).

Todas las mediciones que se hicieron bajo el efecto del insecticida descendieron de 0,44 en los grupos 4, 5, 6, y 7. En el grupo 3 dos de las mediciones descendieron de este límit.e

La variabilidad del valor D. pH/hora en un mismo grupo se estimó tomando como referencia la amplitud de los promedios de las 6 mediciones del grupo testigo; esta amplitud fue de 0,06.

En los grupos 1 y 2, la amplitud no fue mayor que ésta, pero en los restantes fue muy superior.

Para visualizar en forma más representativa los valores promedios de D. pH/hora en las diversas mediciones en cada grupo, estos se expresaron, como porcentaje de actividad relativa respecto al valor inicial en cada grupo, el que se consideró como 100 %.

Estos porcentajes están dados en la Tabla Nº 3 y representado en el Gráfico Nº 1.

TABLA Nº 3

**Porcentaje de actividad relativa de colinesterasa respecto al valor inicial**

| Grupos | Inicial | 12 hs. | 36 hs. | 60 hs. | 84 hs. | 108 hs. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 100 | 93 | 103 | 100 | 97 | 97 |
| 1 | 100 | 96 | 98 | 92 | 92 | 94 |
| 2 | 100 | 92 | 94 | 90 | 92 | 96 |
| 3 | 100 | 72 | 71 | 62 | 68 | 65 |
| 4 | 100 | 67 | 58 | 60 | 60 | 61 |
| 5 | 100 | 62 | 55 | 55 | 53 | 56 |
| 6 | 100 | 73 | 58 | 20 | 16 | 23 |
| 7 | 100 | 81 | 52 | 14 | 0 | 0 |

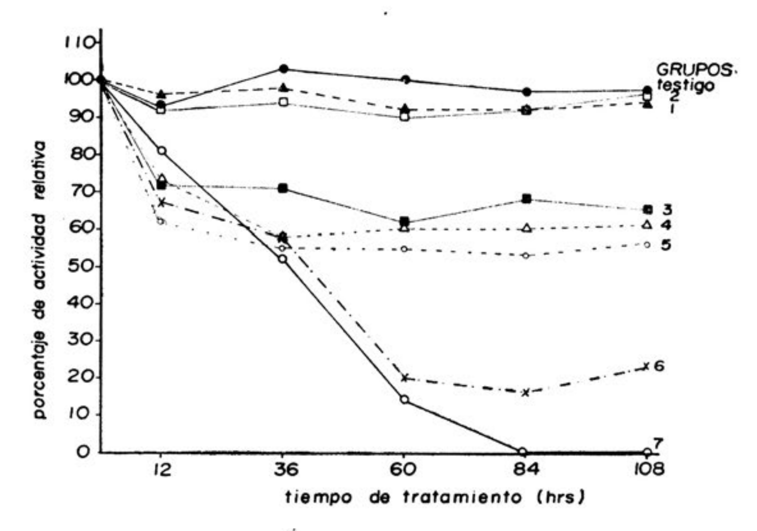



Grafico Nº 1.- Porcentaje de actividad relativa de colinesterasa respecto al valor inicial.

## IV. DISCUSION

En cuanto a la variabilidad del valor D. pH/hora entre individuos podemos expresar, según los resultados obtenidos en ratas, que este valor está sujeto normalmente a apreciables variaciones. Esto estaría de acuerdo con los resultados encontrados en humanos por Hamblin et al. (en del Pozo 1968) que señalan que las variaciones normales en individuos no expuestos son del orden de 60 a 250 %.

Referente a las variaciones existentes en un mismo individuo, éstas también han sido halladas en humanos por Callaway *et al.* (en del Pozo 1968) que han demostrado fluctuaciones de 20 a 23 %. Otros trabajos de Kay *et al.*

y de Wolfsie y Winter (en Kingsley, 1870) han demostrado en humanos variaciones individuales de alrededor de 40 %. Incluso se han encontrado variaciones en la misma muestra analizada por diferentes laboratorios (Serat y Mengle 1973).

Respecto al grado de inhibición de la colinesterasa en los grupos tratados, ésta no se observa inhibida en los grupos 1 y 2 lo que confirmaría el hecho que la técnica empleada presentaría el inconveniente de no detectar concentraciones pequeñas de insecticida (del Pozo 1968).

La dosis capaz de producir inhibición, actúa rápidamente; ya a las 12 horas, la actividad aparece disminuida. Bossen *et al.* (1973), en cerdos sometidos al efecto de Atgard vet en dosis que variaban de 50 a 200 mg/Kg de peso, mostraron una inmediata reducción de la actividad de la colinesterasa plasmática.

Podemos apreciar también que, a partir de un cierto instante y para una determinada dosis de insecticida, la actividad colinesterásica parece mantenerse constante en un nivel al mantener constante la dosis, lo que podría deberse a que se logra un cierto equilibrio, una de cuyas causas podría ser una rápida eliminación del insecticida. Dauterman *et al.* (en O'Brien 1960) después de dosis orales únicas de Dimetoato en ratas, han encontrado que en 448 hs. se ha eliminado desde un 55 a 90 % por la orina. Ahmed *et al.* (en O'Brien 1960) hallaron que el 66 % de dosis orales únicas de 10 mg/kg de Parathión en ratas, era excretado por la orina en 24 hs. Otra causa de este equilibrio, podríamos encontrarla en el hecho de que se active la producción de fosfatasas que hidrolizan el órgano fosforado. Fukani y Shishide (en O'Brien 1967) han encontrado dimetilasas en hígado de ratas, cobayos y conejos tratados con órgano fosforados.

En lo que se refiere al grado de inhibición a medida que se aumenta la dosis de insecticida, no se aprecian variaciones equivalentes respectivas que puedan considerarse significativas. Valeri y Colvee (1960) no encontraron diferencias marcadas en la inhibición de la colinesterasa plasmática entre bovinos tratados con 20 y 40 mg/kg de Butil terciario–cloro–fenil–metil fosforamida metilada.

El análisis de los resultados obtenidos en bovinos establece claramente que la actividad de la enzima está disminuida en los grupos 2, 3 y 4 con respecto al control, lo cual sería atribuible a las aplicaciones con órgano–fosforados que se registraron en los antecedentes previos.

No se aprecian diferencias significativas entre los tres grupos de bovinos afectados. Las diferencias en el número de días que mediaron entre el momento del tratamiento y la toma de las muestras de sangre no tendría mayor importancia, ya que habría que considerar la posibilidad de ingestión continuada durante varios días de pasto contaminado de acuerdo a la vida media de los insecticidas. Recordemos que la vida media del Ekatin es de

alrededor de 30 días (folleto de Hoerchst) y que el Gusathión tiene un período medio de vida de 14 días (folleto de Bayer).

Las pequeñas diferencias encontradas entre los grupos de bovinos afectados o la tasa de disminución de actividad colinesterásica en ellos no nos permiten sugerir alguna inferencia en relación a la cantidad de pesticidas consumida, en cada grupo.

## V. CONCLUSIONES

1. Dada la gran variabilidad del valor D. pH/hora entre individuos, es evidente que para el diagnóstico de casos subclínicos individuales, la actividad de la colinesterasa debe ser medida antes y después de la exposición.

2. El diagnóstico de una intoxicación sub–clínica en un grupo de individuos podría hacerse sin necesidad de contar con una medida previa en ellos, ya que los valores normales de D. pH/hora para grupos individuales son relativamente constantes.

3. Concentraciones pequeñas de insecticida, no pueden ser detectadas mediante el Método Electrónico de Michel ya que éstas no producen inhibición manifiesta de la colinesterasa plasmática.

4. Igualmente el método empleado no es adecuado para determinar, encontrada inhibición en la enzima, la cantidad de pesticida ingerido. Solamente es posible establecer un nivel mínimo de ingestión sobre el cual se produciría inhibición de la colinesterasa.

5. Los pesticidas empleados en aplicaciones aéreas son transferidos al parecer a los animales que pastan en lugares cercanos a donde ellas se realizan, por lo que nos parece prudente sugerir que se tomen las máximas precauciones en éstas, con el objeto de impedir o reducir lo más posible el paso de estas substancias a los animales.

## BIBLIOGRAFIA


Bossen, F.; O. Karlog; F. Rasmussen, 1973. The cholinesterase Activity in Red Blood Cells and Blood Plasma after oral intake of Atgard vet (R) (dichlorvos) in pigs. Nord. Vet. Med., *25:* 584-587.

Carson, R., 1962. Silent Spring 6th Print. Houghton Mifflin Company. Boston.

Del Pozo, A., 1968. Estudio comparativo de tres métodos para la determinación de colinesterasa sanguínea y su aplicación como índice de exposición a pesticidas fosforados. Trabajo de investigación técnica para optar al Título de Técnico Laborante. Escuela de Tecnología Médica. Cniversidad de Chile. Santiago.

Kingsley, K., 1970. Effect of Pesticides on Enzime Systems in Mammals., in Gould F. R.: Organic Pesticides in the Environment, Advances in Chemistry Series 60. 2th Print. American Chemical Society. Washington D. C.

Michel, H., 1949. An Electrometric Method for the Determination of Red Blood Cell and Plasma Cholinesterase Activity. J. Lab. and Clin. Med. *34:* 1564-1568.

O'Brien, R. D., 1960. Toxic Phosphorus Esters. Academic Press New York and London.

O'Brien, R. D., 1967. Insecticides: Action and Metabolism. Academic Press. New York and London.

RODRÍGUEZ, L., 1963. Aspectos toxicológicos de los insecticidas organofosforados. Salud Ocupacional *8:* 25-44.

SANDIFER, S. H.; J. E. KEIL; R. H. GADSDEN, 1972. The Diagnosis and Treatment of Organophosphate Insecticide Poisoning. J. S. Carolina Med. Ass. *68:* 419-421.

SERAT, W. F.; D. C. MENGLE, 1973. Quality Control in the Measurement of Blood Cholinesterase Activities Among Persons Exposed to Pesticides. Bull. Environ. Contam. Toxicol. *9:* 24-27.

SIEGEL, S., 1956. Non parametric statistics for the Behavioral Science. Mc. Graw-Hill. New York.

TOWNSEND, L. R.; H. B. SPECHT, 1975. Organophosphorus and organochlorine pesticide residues in soils and uptake by tobacco plants. Can. J. Plant. Sci. *55:* 835-842.

VALERI, H.; P. COLVEE, 1960. Colinesterasas en vacunos (*Bos taurus*) tratados con insecticidas fosforados. Bol. Inst. Inv. Vet. Maracay, Venezuela. *12* (272).

WEST, I., 1970. Biological Effects of Pesticides in the Environment; in Gould, F. R: Organic Pesticides in the Environment, Advances in Chemistry Series 60. 2th Print. American Chemical Society. Washington D. C.

WHITTEN. J. L., 1969. Para que podamos vivir. Ed. Diana. México.

WITER, R. F., 1963. Measurement of Blood Cholinesterase. Arch. Environ. Health *6:* 537-563.

WOLFE, H. R.; D. C. STAIFF; J. F. ARMSTRONG, 1973. Persistence of Parathion in Soil. Bull. Environ. Contam. Toxicol *10:* 1-9.